



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0040601
(43) 공개일자 2021년04월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 41/00 (2020.01) A61K 47/24 (2017.01)

C08K 5/00 (2006.01) C08L 5/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 41/0042 (2013.01)

A61K 41/0057 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0123035

(22) 출원일자 2019년10월04일

심사청구일자 2019년10월04일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)

(72) 발명자

임권택

부산광역시 부산진구 당감로 118, 105동 1202호(부암동, 협성피닉스타운)

(74) 대리인

위병갑

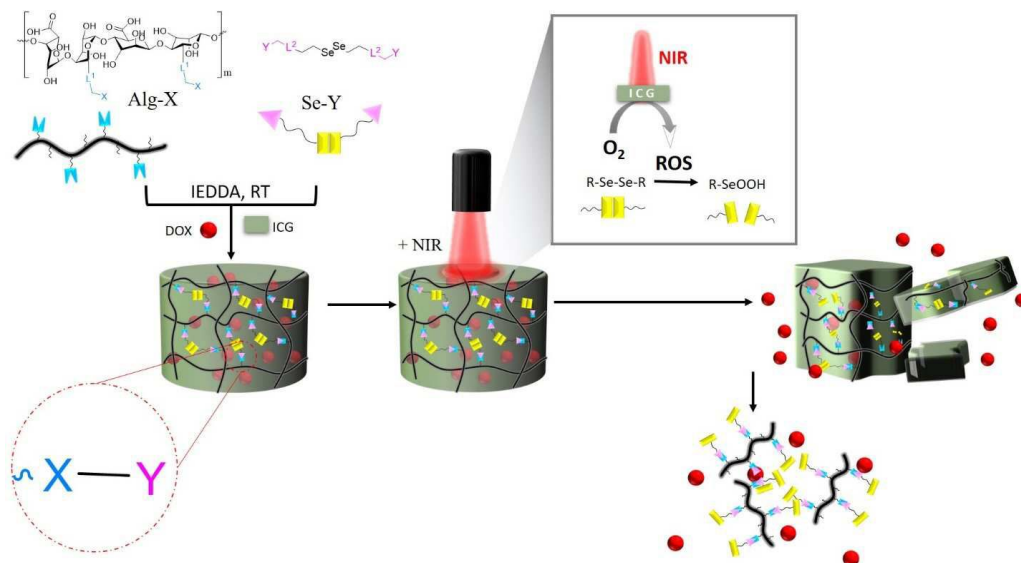
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔 담체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 약물 전달 시스템

(57) 요약

본 발명은 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔 담체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 약물 전달 시스템에 관한 것으로, 본 발명의 하이드로겔은 외부에서 근적외선을 사용하여 약물 방출을 유도하는 약물전달체로써 클릭반응에 의하여 간편하게 제조될 수 있고, 특이적으로 외부에서 능동적으로 약물을 분해하고 방출함에 따라 제약분야와 화장품 분야에 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/24 (2013.01)
A61K 47/36 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
A61K 9/06 (2013.01)
C08K 5/0025 (2013.01)
C08K 5/0041 (2013.01)
C08K 5/48 (2013.01)
C08L 5/04 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345282853
과제번호	2018R1D1A3B07041437
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	지역대학우수과학자지원사업
연구과제명	클릭반응을 이용한 약물전달용 고성능 고분자 임플란트 물질 합성 연구
기 여 율	1/2
과제수행기관명	부경대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345292663
과제번호	2018R1D1A3B07041437
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축(R&D)
연구과제명	클릭반응을 이용한 약물전달용 고성능 고분자 임플란트 물질 합성 연구
기 여 율	1/2
과제수행기관명	부경대학교 산학협력단
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.28

명세서

청구범위

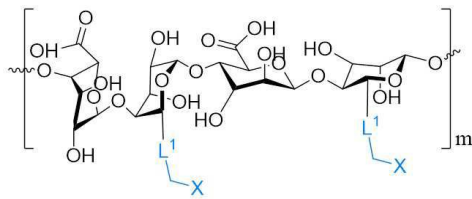
청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 알긴산 유도체;

하기 화학식 2로 표시되는 디셀레나이드 결합을 포함하는 가교제; 및

근적외선 조사시 활성산소종을 형성하는 것을 특징으로 하는 근적외선 염료(NIR dye);를 포함하는, 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔:

[화학식 1]



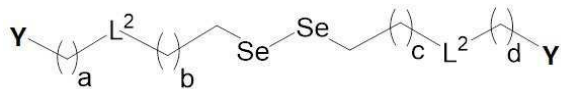
(상기 화학식 1에서,

L^1 은 에스테르(ester) 또는 아마이드(amide) 결합이고;

X는 노르보네닐(norbornenyl), 트랜스-시클로옥텐(trans-cyclooctene), 테트라지닐(tetrazinyl), 말레이미딜(maleimidyl), 퓨라닐(furanyl), 알카이닐(alkynyl), 및 아지도(azido) 로 이루어지는 군으로 부터 선택되는 어느 하나의 클릭반응 작용기이고,

m은 1-10,000의 정수이다);

[화학식 2]



(상기 화학식 2에서,

a, b, c 및 d는 각각 1-10의 정수이고;

L^2 는 에스테르(ester) 또는 아마이드(amide) 결합이고;

Y는 노르보네닐(norbornenyl), 트랜스-시클로옥텐(trans-cyclooctene), 테트라지닐(tetrazinyl), 말레이미딜(maleimidyl), 퓨라닐(furanyl), 알카이닐(alkynyl), 및 아지도(azido) 로 이루어지는 군으로 부터 선택되는 어느 하나의 클릭반응 작용기이다);

여기서, 상기 화학식 1의 치환기 X와 상기 화학식 2의 치환기 Y는 서로 클릭반응가능한 조합인 것을 특징으로 한다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 근적외선 염료는 인도시아닌 그린(ICG), 메틸렌 블루(MB), IRDye 800 CW, Cy5.5, Cy7, Cy7.5, protoporphyrin IX, IR-780, IR-783, IR-808 및 MHI-148로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 하이드로겔.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 하이드로겔은 근적외선에 반응하여 가교제의 디셀레나이드 결합이 분해되는 것을 특징으로 하는 하이드로겔.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔은 하이드로겔 내에 약물을 도입할 수 있고,

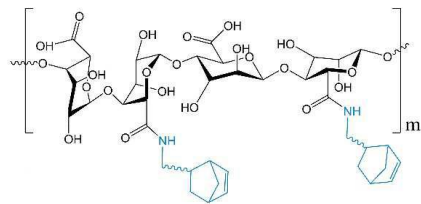
상기 약물은 인슐린, 항 류마티스 제제, 프레드니솔론 21-아세테이트(prednisolone 21-acetate), 파클리탁셀(paclitaxel), 독소루비신(doxorubicin), 레티노익 산(retinoic acid)계열, 시스플라틴(cis-platin), 캄토세신(camptothecin), Fluorouracil(5-FU), 도세탁셀(Docetaxel), 타목시펜(Tamoxifen), 아나스테로졸(anastrozole), 토포테칸(topotecan), 글리벡(gleevec), 빈크리스틴(vincristine), 아스피린(aspirin), 살리실레이트(salicylates), 이부프로펜(ibuprofen), 페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 페닐부타존(phenyltazone), 메소트렉세이트(methotrexate), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 덱사메타손(dexamethasone), 니메술리드(nimesulide), 코르티손(cortisone), 코르티코스테로이드(corticosteroid), 모자반 추출물, 동물 태반 유래의 단백질, α -리포산(α -lipoic acid), α -토코페롤(α -Tocopherol), 레티노이드(Retinoids), 및 글루타치온(Glutathione)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 하이드로겔.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 3]

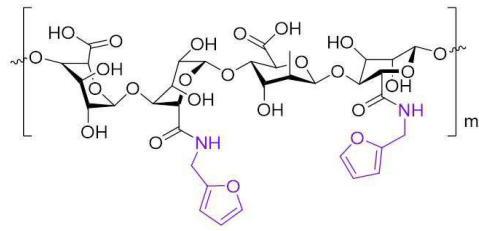


청구항 6

제1항에 있어서,

상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 4으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 4]

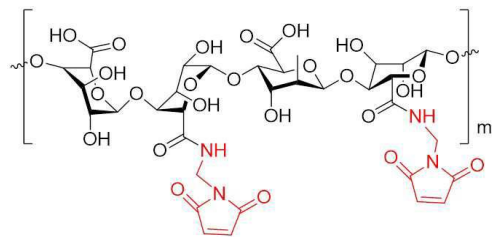


청구항 7

제1항에 있어서,

상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 5로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 5]

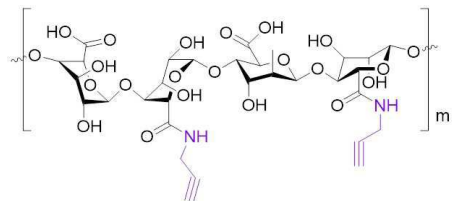


청구항 8

제1항에 있어서,

상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 6으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 6]

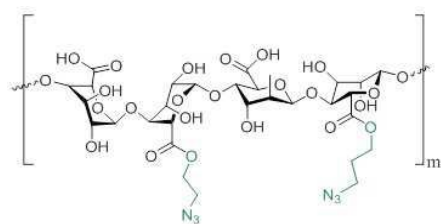


청구항 9

제1항에 있어서,

상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 7로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 7]

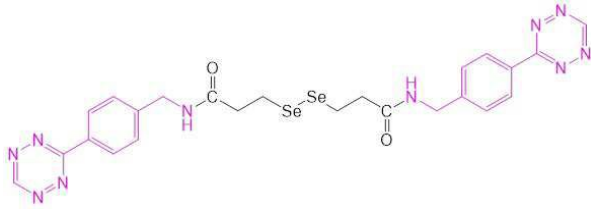


청구항 10

제1항에 있어서,

상기 가교제는 하기 화학식 8로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 8]

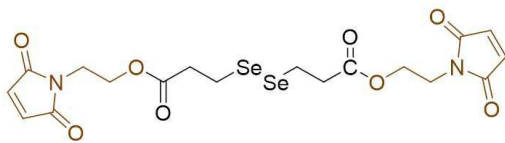


청구항 11

제1항에 있어서,

상기 가교제는 하기 화학식 9로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 9]

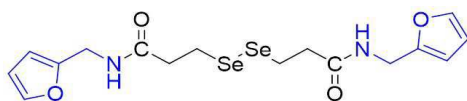


청구항 12

제1항에 있어서,

상기 가교제는 하기 화학식 10으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 10]

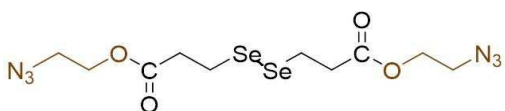


청구항 13

제1항에 있어서,

상기 가교제는 하기 화학식 11로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 11]

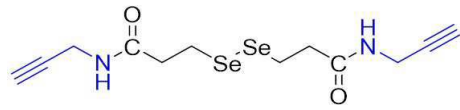


청구항 14

제1항에 있어서,

상기 가교제는 하기 화학식 12로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 하이드로겔:

[화학식 12]



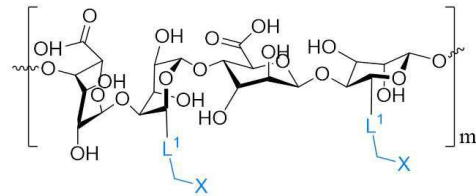
청구항 15

하기 화학식 1로 표시되는 알긴산 유도체;

하기 화학식 2로 표시되는 디셀레나이드 결합을 포함하는 가교제; 및

근적외선 조사시 활성산소종을 형성하는 것을 특징으로 하는 근적외선 염료(NIR dye);를 용매에 첨가하고 반응하는 단계(단계 1); 를 포함하는, 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔의 제조방법:

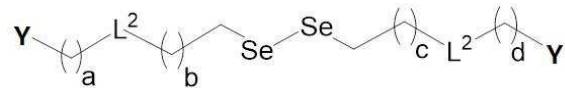
[화학식 1]



(상기 화학식 1에 있어서,

L^1 및 X는 제 1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다);

[화학식 2]



(상기 화학식 2에 있어서,

L^2 및 Y는 제 1항의 화학식 2에서 정의한 바와 같다).

청구항 16

제1항의 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔을 포함하는 약물전달체.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 약물은 인슐린, 항 류마티스 제제, 프레드니솔론 21-아세테이트(prednisolone 21-acetate), 파클리탁셀(paclitaxel), 독소루비신(doxorubicin), 레티노익 산(retinoic acid)계열, 시스플라틴(cis-platin), 캄토세신(camptothecin), Fluorouracil(5-FU), 도세탁셀(Docetaxel), 타목시펜(Tamoxifen), 아나스테로졸(anastrozole), 토포테칸(topotecan), 글리벡(gleevec), 빈크리스틴(vincristine), 아스피린(aspirin), 살리실레이트(salicylates), 이부프로펜(ibuprofen), 페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 페닐부타존(phenyltazone), 메소트렉세이트(methotrexate), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 텍사메타손

(dexamethasone), 니메술리드(nimesulide), 코르티손(cortisone), 코르티코스테로이드(corticosteroid), 모자반 추출물, 동물 태반 유래의 단백질, α -리포산(α -lipoic acid), α -토코페롤(α -Tocopherol), 레티노이드(Retinoids), 및 글루타치온(Glutathione)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 하이드로겔 약물 전달체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔 담체, 이의 제조방법 및 이를 이용한 약물 전달 시스템에 관한 것으로, 디셀레나이드를 포함한 가교결합을 기반으로 근적외선 빛에 반응하는 알긴산 하이드로겔의 분해 및 약물 방출에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 지난 수십 년 동안 하이드로겔(hydrogel)은 풍부한 수분 함량과 천연 생체 조직의 환경과 유사한 부드러운 성질 등으로 인하여 실용적인 바이오 캐리어로 개발되었다. 알긴산(alginate)은 생체 적합성(biocompatibility), 생분해성(biodegradability) 및 저 가격성으로 인해 우수한 천연 하이드로겔 원료 물질 중의 하나이다. 알긴산은 고분자 사슬을 따라 α -L-guluronic acid (G)와 1,4-linked β -D-mannuronic acid (M)의 반복 단위로 구성된 갈색 해조류에서 얻어진다. 알긴산 하이드로겔의 졸-겔(sol-gel) 전이는 이온성 가교 결합제(ionic cross-linker)로서 작용하는 2가 양이온의 존재 하에서 온화한 조건 하에서 매우 쉽게 일어난다. 그러나, 이온 결합에 의하여 가교된 알긴산 하이드로겔은 시간이 지남에 따라 매트릭스(matrix)로부터의 자연적인 이온 방출에 의해 기계적 강도를 잃는 것으로 나타났다. 한편, 기계적 성질이 장기간 유지될 수 있는, 공유 결합(covalent bond)으로 가교된 하이드로겔 구조는 알긴산 하이드록실(hydroxyl) 및 카르복실기(carboxyl group)를 변형시킴으로써 제조된다.

[0003] 최근에는, 퓨란기가 도입된(furan-modified) 알긴산과 말레이미드 가교제(maleimide cross-linker)의 디엘스 알더(Diels-Alder) 반응을 통해 공유 결합으로 가교된 알긴산 하이드로겔이 생산되었다. 그러나 이러한 하이드로겔을 형성하기 위해서는 약 65°C의 비교적 높은 온도에서 오랫동안 반응 시간이 필요하다. 반면에, 역 전자 수요 디엘스 알더(inverse electron demand Diels-Alder, IEDDA) 반응은 온화한 조건에서 빠른 반응과 주위에 손상을 일으키지 않으면서 생체 적합 물질을 캡슐화 할 수 있는 유기 화학 반응으로, 주사 가능한 하이드로겔에 적합하다고 알려져 있다.

[0004] 지금까지 생리 조건에서 하이드로겔 가교 결합의 분해를 촉진시키기 위해 pH, 빛 및 초음파와 같은 몇 가지 자극 - 응답성 트리거(stimuli-responsive triggers)가 알긴산 하이드로겔에 도입되었다. 그중에 한가지 방법으로 UV 광 반응성 알긴산 하이드로겔이 개발되어, UV 조사에 의해 내부 염료 물질의 방출을 조절할 수 있었으나 자외선은 조직에 깊숙이 침투할 수 없으며 인체에 손상을 줄 수 있는 단점이 있다. 반면에, 근적외선(near infrared, NIR) 빛은 큰 부작용 없이 3 ~ 5 밀리미터 정도 생체 조직에 깊숙이 침투할 수 있는 장점이 있다. 그동안 근적외선 광응답성 하이드로겔을 생산하는 일반적인 방법으로 산화 그래핀 나노 시트(graphene oxide nanosheet), 탄소 나노 튜브(carbon nanotube) 및 금 나노 입자(gold nanoparticle)와 같은 근적외선 흡수 물질을 사용하는 것이 알려졌다. 그러나, 이러한 종류의 방법들은 열 감응성 중합체(thermosensitive polymer)에 대해서만 가능하여 알긴산과 같은 생체 유래 고분자에 적용하기가 어렵고 또한 근적외선 빛이 꺼지면 분해반응이 멈추게 된다. 한편 근적외선 염료인 인도시아 그린(Indocyanine green, ICG)은 근적외선을 흡수하고 반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성할 수 있는, 미국 식품의약국(FDA)에서 승인된 안전한 첨가제이다. ROS는 약한 공유 결합, 특히 낮은 결합 에너지의 산화 환원 민감성 디셀레나이드(diselenide) 결합을 쉽게 분해시키는 성질이 있다.

[0005] 따라서, Se-Se 결합과 IEDDA 클릭 화학(click chemistry)의 과학적인 조합은 주사 가능한 근적외선 반응성 하이드로겔을 만드는 유망한 전략이 될 수 있다.

[0006] 본 발명에서는 IEDDA 클릭 작용기가 각각 도입된 알긴산과 디셀레나이드 가교제 사이의 클릭 반응을 이용하여 알긴산을 기반으로 한 새로운 NIR 반응성 하이드로겔에 대한 방법을 제공한다. 본 발명에 의하면 온화한 환경 조건 하에서 신속하게 하이드로겔 형성 및 ICG 및 DOX를 동시에 하이드로겔 매트릭스에 로딩할 수 있다. 그리고, 근적외선을 하이드로겔에 조사하면 내부에 생성된 ROS는 하이드로겔 네트워크의 디셀레나이드 가교 결합을 파괴하여 하이드로겔의 분해 및 포획된 약물의 조절된 방출을 효과적으로 유도한다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제2009-0076856호
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제2011-0102995호

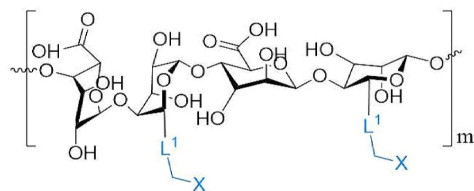
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 목적은 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔을 제공하는 것이다.
[0010] 본 발명의 다른 목적은 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔의 제조방법을 제공하는 것이다.
[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 하이드로겔을 포함하는 약물전달체를 제공하는 것이다.

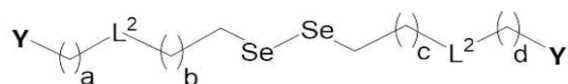
과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위하여,
[0013] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 알긴산 유도체;
[0014] 하기 화학식 2로 표시되는 디셀레나이드 결합을 포함하는 가교제; 및
[0015] 근적외선 조사시 활성산소종을 형성하는 것을 특징으로 하는 근적외선 염료(NIR dye);를 포함하는, 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔을 제공한다:
[0016] [화학식 1]



- [0017]
[0018] (상기 화학식 1에서,
[0019] L^1 은 에스테르(ester) 또는 아마이드(amide) 결합이고;
[0020] X는 노르보네닐(norbornenyl), 트랜스-시클로옥텐(trans-cyclooctene), 테트라지닐(tetrazinyl), 말레이미딜(maleimidyl), 퓨라닐(furanyl), 알카이닐(alkynyl), 및 아지도(azido) 로 이루어지는 군으로 부터 선택되는 어느 하나의 클릭반응 작용기이고,
[0021] m은 1-10,000의 정수이다);

- [0022] [화학식 2]



- [0023]
[0024] (상기 화학식 2에서,
[0025] a, b, c 및 d는 각각 1-10의 정수이고;
[0026] L^2 는 에스테르(ester) 또는 아마이드(amide) 결합이고;

[0027] Y는 노르보네닐(norbornenyl), 트랜스-시클로옥텐(trans-cyclooctene), 테트라지닐(tetrazinyl), 말레이미딜(maleimidy), 퓨라닐(furanyl), 알카이닐(alkynyl), 및 아지도(azido) 로 이루어지는 군으로 부터 선택되는 어느 하나의 클릭반응 작용기이다);

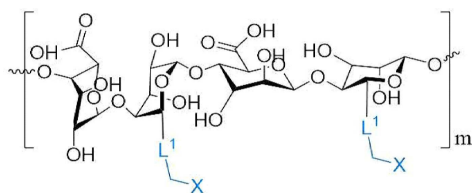
[0028] 여기서, 상기 화학식 1의 치환기 X와 상기 화학식 2의 치환기 Y는 서로 클릭반응가능한 조합인 것을 특징으로 한다.

[0030] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 알긴산 유도체;

[0031] 하기 화학식 2로 표시되는 디셀레나이드 결합을 포함하는 가교제; 및

[0032] 근적외선 조사시 활성산소종을 형성하는 것을 특징으로 하는 근적외선 염료(NIR dye);를 용매에 첨가하고 반응하는 단계(단계 1); 를 포함하는, 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔의 제조방법을 제공한다:

[0033] [화학식 1]

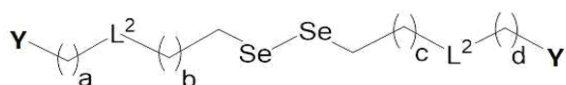


[0034]

[0035] (상기 화학식 1에 있어서,

[0036] L¹ 및 X는 제 1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다);

[0037] [화학식 2]



[0038]

[0039] (상기 화학식 2에 있어서,

[0040] L² 및 Y는 제 1항의 화학식 2에서 정의한 바와 같다).

[0042] 나아가 본 발명은 본 발명의 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔을 포함하는 약물전달체를 제공한다.

발명의 효과

[0043] 본 발명의 하이드로겔은 외부에서 근적외선을 사용하여 약물 방출을 유도하는 약물전달체로써 클릭반응에 의하여 간편하게 제조될 수 있고, 특이적으로 외부에서 능동적으로 약물을 분해하고 방출함에 따라 제약분야와 화장품 분야에 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1은 알긴산과 가교제가 클릭반응하여 약물과 근적외선 염료를 함유한 하이드로겔을 형성하고, 근적외선 조사에 의하여 하이드로겔 구조가 붕괴하면서 내부 약물을 방출하는 방법을 나타낸 도이다

도 2은 알긴산, 디셀레나이드 가교제 및 알긴산 하이드로겔의 합성을 나타낸 도이다

도 3은 알긴산(Alg), 제조예1(Alg-Nb)과 3,3'-디셀레네디일디프로피오닉산(DSeDPA), 제조예 6(Se-Tz)의 ¹H NMR 스펙트럼을 나타낸 도이다.

도 4은 알긴산(Alg), 제조예1(Alg-Nb), 제조예6(Se-Tz), 하이드로겔(실시예1)의 FT-IR스펙트럼을 나타낸

도이다.

도 5은 실시예 1-1 하이드로겔의 유동학적 전단탄성계수 (a)와 하이드로겔(실시예 1-1 내지 실시예 1-4)의 저장 계수 (b), 위상각 (c), 팽윤비율 (d)을 각각 나타낸 도이다.

도 6는 실시예 1-1 내지 실시예 1-4 하이드로겔의 SEM 이미지를 나타낸 도이다.

도 7은 여러 종류의 하이드로겔 (실시예 1-1 내지 실시예 1-4)이 외부자극 (근적외선 또는 H_2O_2) 분해하여 무게가 감소되는 양상 ((a), (b), (c)) 과 하이드로겔 분해 과정의 사진 (d) 을 나타낸 도이다.

도 8는 여러 가지 하이드로겔 (HGCR1/DOX(비교예2), HGCR1/DOX/ICG(실시예2))이 외부 자극 (H_2O_2 또는 NIR)을 받았을 때 시간에 따른 내부 DOX 방출량을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

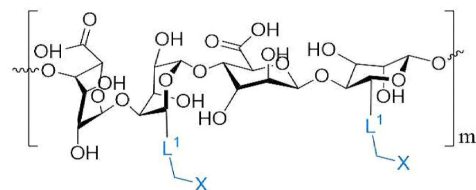
근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 알긴산 유도체;

하기 화학식 2로 표시되는 디셀레나이드 결합을 포함하는 가교제; 및

근적외선 조사시 활성산소종을 형성하는 것을 특징으로 하는 근적외선 염료(NIR dye);를 포함하는, 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔을 제공한다.

[화학식 1]



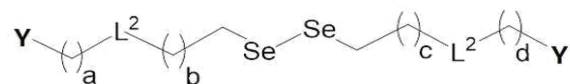
(상기 화학식 1에서,

L^1 은 에스테르(ester) 또는 아마이드(amide) 결합이고;

X는 노르보네닐(norbornenyl), 트랜스-시클로옥텐(trans-cyclooctene), 테트라지닐(tetrazinyl), 말레이미딜(maleimidy), 퓨라닐(furanyl), 알카이닐(alkynyl), 및 아지도(azido) 로 이루어지는 군으로 부터 선택되는 어느 하나의 클릭반응 작용기이고,

m은 1-10,000의 정수이다);

[화학식 2]



(상기 화학식 2에서,

a, b, c 및 d는 각각 1-10의 정수이고;

L^2 는 에스테르(ester) 또는 아마이드(amide) 결합이고;

Y는 노르보네닐(norbornenyl), 트랜스-시클로옥텐(trans-cyclooctene), 테트라지닐(tetrazinyl), 말레이미딜(maleimidy), 퓨라닐(furanyl), 알카이닐(alkynyl), 및 아지도(azido) 로 이루어지는 군으로 부터 선택되는 어느 하나의 클릭반응 작용기이다);

여기서, 상기 화학식 1의 치환기 X와 상기 화학식 2의 치환기 Y는 서로 클릭반응가능한 조합인 것을 특징으로

한다.

[0065] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 근적외선 염료는 인도시아닌 그린(ICG), 메틸렌 블루(MB), IRDye 800 CW, Cy5.5, Cy7, Cy7.5, protoporphyrin IX, IR-780, IR-783, IR-808 및 MHI-148로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있고, 바람직하게는 인도시아닌 그린일 수 있다.

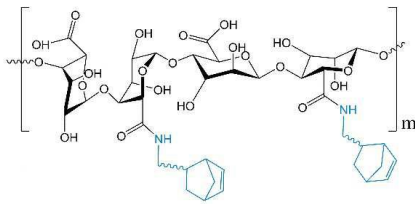
[0066] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 하이드로겔은 근적외선에 반응하여 가교제의 디설파나이드 결합이 분해되는 것을 특징으로 한다.

[0067] 상기 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔은 하이드로겔 내에 약물을 도입할 수 있고,

[0068] 상기 약물의 예로는 인슐린, 항 류마티스 제제, 프레드니솔론 21-아세테이트(prednisolone 21-acetate), 파클리탁셀(paclitaxel), 독소루비신(doxorubicin), 레티노익 산(retinoic acid)계열, 시스플라틴(cis-platin), 캄토세신(camptothecin), Fluorouracil(5-FU), 도세탁셀(Docetaxel), 타목시펜(Tamoxifen), 아나스테로졸(anastrozole), 토포테칸(topotecan), 글리벡(gleevec), 빈크리스틴(vincristine), 아스피린(aspirin), 살리실레이트(salicylates), 이부프로펜(ibuprofen), 페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 페닐부타존(phenyltazone), 메소트렉세이트(methotrexate), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 텍사메타손(dexamethasone), 니메술리드(nimesulide), 코르티손(cortisone), 코르티코스테로이드(corticosteroid), 모자반 추출물, 동물 태반 유래의 단백질, α-리포산(α-lipoic acid), α-토코페롤(α-Tocopherol), 레티노이드(Retinoids) 또는 글루타치온(Glutathione)일 수 있고, 바람직하게는 독소루비신일 수 있다.

[0070] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

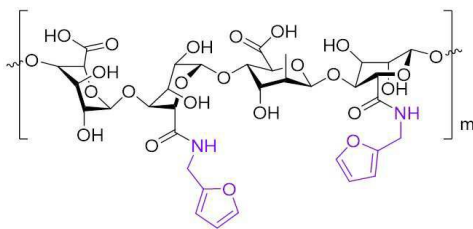
[0071] [화학식 3]



[0072]

[0073] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 4로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

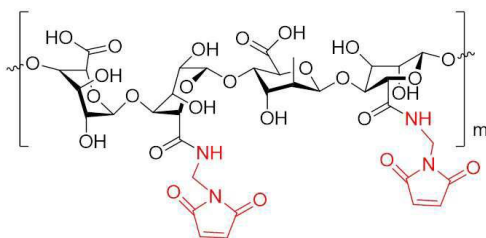
[0074] [화학식 4]



[0075]

[0076] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 5로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[0077] [화학식 5]

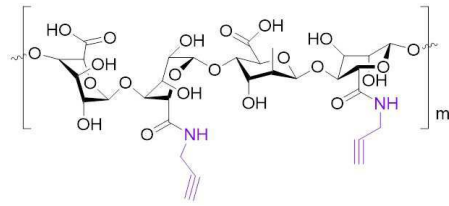


[0078]

[0079] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 6으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

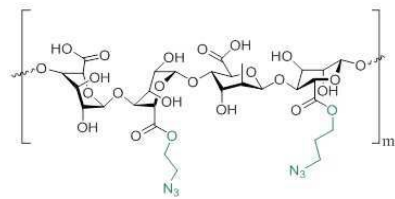
한다.

[화학식 6]



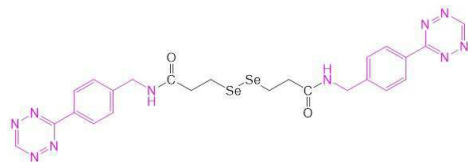
본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 7로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[화학식 7]



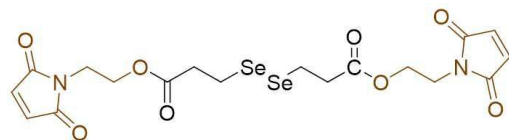
본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 8로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[화학식 8]



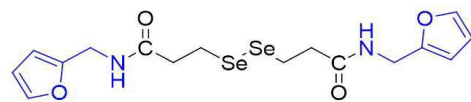
본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 9로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[화학식 9]



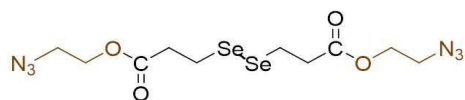
본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 10으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[화학식 10]



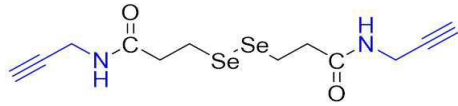
본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 11로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[화학식 11]



본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 12로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[화학식 12]



[0099]

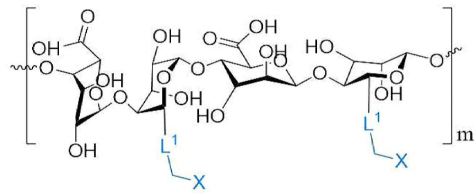
[0101] 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔의 제조방법

[0102] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 알긴산 유도체;

[0103] 하기 화학식 2로 표시되는 디셀레나이드 결합을 포함하는 가교제; 및

[0104] 근적외선 조사시 활성산소종을 형성하는 것을 특징으로 하는 근적외선 염료(NIR dye);를 용매에 첨가하고 반응하는 단계(단계 1);를 포함하는, 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔의 제조방법을 제공한다.

[0105] [화학식 1]

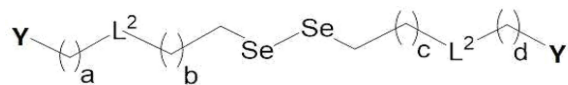


[0106]

[0107] (상기 화학식 1에 있어서,

[0108] L¹ 및 X는 제 1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다);

[0109] [화학식 2]



[0110]

[0111] (상기 화학식 2에 있어서,

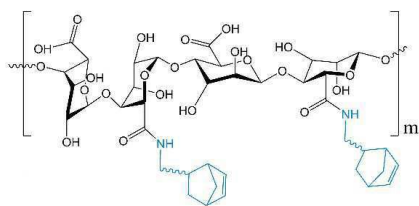
[0112] L² 및 Y는 제 1항의 화학식 2에서 정의한 바와 같다).

[0113] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 근적외선 염료는 인도시아닌 그린(ICG), 메틸렌 블루(MB), IRDye 800 CW, Cy5.5, Cy7, Cy7.5, protoporphyrin IX, IR-780, IR-783, IR-808 및 MHI-148로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있고, 바람직하게는 인도시아닌 그린일 수 있다.

[0114] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 하이드로겔은 근적외선에 반응하여 가교제의 디셀레나이드 결합이 붕해되는 것을 특징으로 한다.

[0115] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 3으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

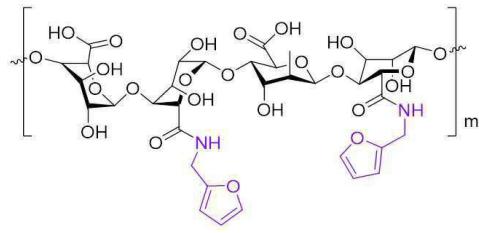
[0116] [화학식 3]



[0117]

[0118] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 4로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

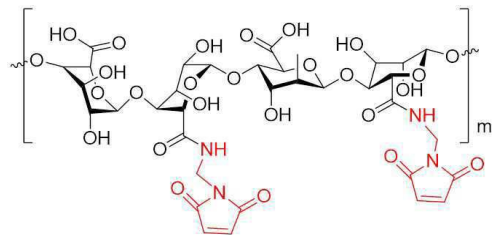
[0119] [화학식 4]



[0120]

[0121] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 5로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

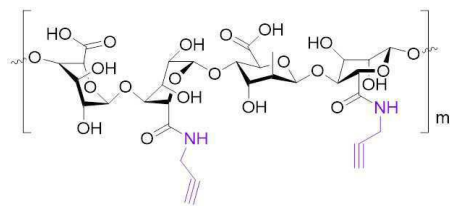
[0122] [화학식 5]



[0123]

[0124] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 6으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

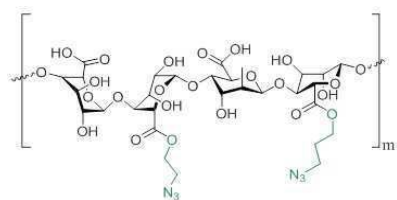
[0125] [화학식 6]



[0126]

[0127] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 알긴산 유도체는 하기 화학식 7로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

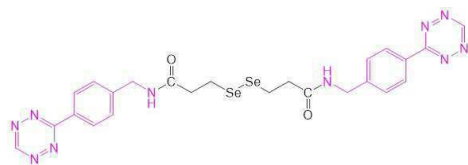
[0128] [화학식 7]



[0129]

[0130] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 8로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

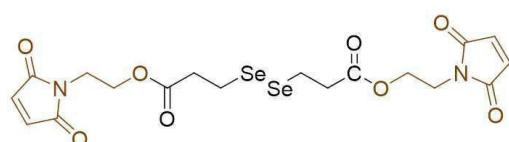
[0131] [화학식 8]



[0132]

[0133] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 9로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

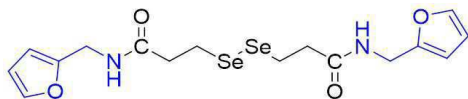
[0134] [화학식 9]



[0135]

[0136] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 10으로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

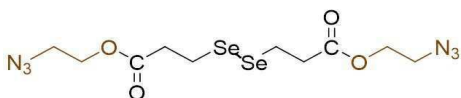
[0137] [화학식 10]



[0138]

[0139] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 11로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

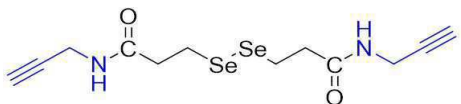
[0140] [화학식 11]



[0141]

[0142] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 가교제는 하기 화학식 12로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 한다.

[0143] [화학식 12]



[0144]

[0146] 약물전달체

[0147] 본 발명은 상기 근적외선을 이용한 외부자극 감응형 하이드로겔을 포함하는 약물전달체를 제공한다.

[0148] 본 발명의 약물전달체에 있어서, 상기 약물의 예로는 인슐린, 항 류마티스 제제, 프레드니솔론 21-아세테이트(prednisolone 21-acetate), 파클리탁셀(paclitaxel), 독소루비신(doxorubicin), 레티노익 산(retinoic acid) 계열, 시스플라틴(cis-platin), 캄토세신(camptothecin), Fluorouracil(5-FU), 도세탁셀(Docetaxel), 타목시펜(Tamoxifen), 아나스테로졸(anastrozole), 토포테칸(topotecan), 글리벡(gleevec), 빈크리스틴(vincristine), 아스피린(aspirin), 살리실레이트(salicylates), 이부프로펜(ibuprofen), 페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 페닐부타존(phenyltazone), 메소트렉세이트(methotrexate), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 덱사메타손(dexamethasone), 니메술리드(nimesulide), 코르티손(cortisone), 코르티코스테로이드(corticosteroid), 모자반 추출물, 동물 태반 유래의 단백질, α-리포산(α-lipoic acid), α-토코페롤(α-Tocopherol), 레티노이드(Retinoids) 또는 글루타치온(Glutathione)일 수 있고, 바람직하게는 독소루비신일 수 있다.

[0150] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0152] <제조예 1> 알긴산-노르보넨(Alg-Nb)의 합성

[0153] 알긴산나트륨 1g (COOH 작용기 대비 5.32mmol)을 0.5% w/v의 농도로 완충 용액(pH 5.8, MES 0.1M, NaCl 0.3M 포함)에 용해하였다. 다음으로 N-하이드록시석신이미드(N-hydroxysuccinimide, NHS) 0.36g(3.16 mmol)과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 하이드로클로라이드(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride, EDCI) 1.11g (5.8 mmol)을 상기 알긴산염 용액에 첨가하였다. 10분간 교반한 후 5-노보넨-2-메틸아민(5-norbornene-2-methylamine, Nb-NH₂) 0.32g (2.63mmol)을 (물 비율 NHS:EDC:Nb-NH₂ = 1:2:1) 혼합물에 추가하였다. 상온에서 24시간 동안 교반한 다음 히드록실아민으로 반응을 정지하였다. 혼합물은 과잉의 아세트산 용액에 침전시키고, 여과된 고체는 진공 오븐에서 건조한 후 증류수로 1% w/v 용액으로 다시 수화한 다음, 증류수로 4일 동안 13 kDa MWCO 투석백에서 투석하였다. 마지막으로 동결건조하여 기능화 25.53%의 정제된 Alg-Nb를 77% 수율로 수득하였다. Alg-Nb의 화학구조는 도 2에 나타난 바와 같다.

- [0154] 상기 제조예 1의 Alg-Nb의 ^1H NMR 및 FT-IR 스펙트럼을 도 3 A) 및 4에 각각 나타내었다.
- [0156] <제조예 2> 알긴산-퓨란(Alg-Fu)의 합성
- [0157] 알긴산나트륨 1.25g (COOH 작용기 대비 6.6452 mmol)을 0.5% w/v의 농도로 0.1 M의 2-모르폴리노에탄설향산(2-morpholinoethanesulfonic acid, MES)와 0.3 M의 NaCl을 함유한 완충 용액에 용해하였다. 다음으로 알긴산염 용액에 NHS 0.45g (3.95mmol)와 EDCI 1.39g (7.25mmol)를 첨가하였다. 10분간 교반한 후, 퓨릴 아민 0.32g (3.3mmol) (물 비율 NHS:EDC:Fu-NH₂ = 1:2:1)을 혼합물에 추가했다. 상온에서 24시간 동안 교반하여 반응하였고, 그 후 반응은 히드록실아민을 넣어 정지하였다. 혼합물은 과잉의 아세톤에 침전하였고, 여과된 고체는 진공 오븐에서 건조하였다. 이것을 증류수에 1% w/v 용액으로 녹인 다음, 4일 동안 13 kDa MWCO 투석백에서 증류수로 투석했다. 생성물을 동결 건조하여 정제된 Alg-Fu를 80 % 수율로 산출하였다.
- [0159] <제조예 3> 알긴산-말레이미드(Alg-Mi)의 합성
- [0160] 알긴산나트륨 1.25g (COOH 작용기 대비 6.6452 mmol)을 0.5% w/v의 농도로 0.1 M의 MES와 0.3 M의 NaCl을 함유한 완충 용액에 용해하였다. 다음으로 알긴산염 용액에 NHS 0.45g (3.95mmol)와 EDCI 1.39g (7.25mmol)를 첨가하였다. 10분간 교반한 후, 1-(아미노메틸)-1H-피롤-2,5-디온 0.416g (3.3mmol) (물 비율 NHS:EDC:Mi-NH₂ = 1:2:1)을 혼합물에 추가했다. 상온에서 24시간 동안 교반하여 반응하였고, 그 후 반응은 히드록실아민을 넣어 정지하였다. 혼합물은 과잉의 아세톤에 침전하였고, 여과된 고체는 진공 오븐에서 건조하였다. 이것을 증류수에 1% w/v 용액으로 녹인 다음, 4일 동안 13 kDa MWCO 투석 백에서 증류수로 투석했다. 생성물을 동결 건조하여 정제된 Alg-Mi를 82 % 수율로 산출하였다.
- [0162] <제조예 4> 알긴산-알카인(Alg-Aky)의 합성
- [0163] 알긴산나트륨 1.25g (COOH 작용기 대비 6.6452mmol)을 0.5% w/v의 농도로 MES 0.1 M과 NaCl 0.3 M을 함유한 완충 용액에 용해하였다. 상기 알긴산염 용액에 NHS 0.45g (3.95mmol)와 EDCI 1.39g (7.25mmol)을 첨가하였다. 10분 간 교반한 후 프로파길 아민(Aky-NH₂) 0.18g (3.3mmol) (물 비율 NHS:EDC:Aky-NH₂ = 1:2:1)을 혼합물에 추가했다. 상온에서 24시간 동안 교반하여 반응하였고, 그 후 반응은 히드록실아민을 넣어 정지하였다. 혼합물은 과잉의 아세톤에 침전하였고, 여과된 고체는 진공 오븐에서 건조하였다. 이것을 증류수에 1% w/v 용액으로 녹인 다음, 4일 동안 13 kDa MWCO 투석 백에서 증류수로 투석했다. 생성물을 동결 건조하여 정제된 Alg-Aky를 78 % 수율로 산출하였다.
- [0165] <제조예 5> 알긴산-나이트라이드(Alg-N₃)의 합성
- [0166] 알긴산나트륨 1.25g (COOH 작용기 대비 6.6452 mmol)을 0.5% w/v의 농도로 0.1 M의 MES와 0.3 M의 NaCl을 함유한 완충 용액에 용해하였다. 다음으로 알긴산염 용액에 NHS 0.45g (3.95mmol)와 EDCI 1.39g (7.25mmol)를 첨가하였다. 10분 간 교반한 후, 3-아지도프로판올 0.33g (3.3mmol) (물 비율 NHS:EDC:N₃-OH = 1:2:1)을 혼합물에 추가했다. 상온에서 24시간 동안 교반하여 반응하였고, 그 후 반응은 히드록실아민을 넣어 정지하였다. 혼합물은 과잉의 아세톤에 침전하였고, 여과된 고체는 진공 오븐에서 건조하였다. 이것을 증류수에 1% w/v 용액으로 녹인 다음, 4일 동안 13 kDa MWCO 투석 백에서 증류수로 투석했다. 생성물을 동결 건조하여 정제된 Alg-N₃를 79 % 수율로 산출하였다.
- [0168] <제조예 6> 디셀레나이드-테트라진 가교제(Se-Tz) 합성
- [0169] 단계1 ∴ 3,3'-디셀라네디일비스(N-(4-시아노벤질)프로파마이드) (3,3'-diselanediylbis(N-(4-cyanobenzyl)propanamide, DSeDPA-4AM)의 합성
- [0170] 3,3'-디셀라네디일디프로피오닉산 (3,3'-diselanediyl dipropionic acid, DSeDPA) 1g (3.2mmol)을 디클로로메탄

(dichloromethane, DCM)(30mL)과 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran, THF)(3mL)의 혼합 용매에 용해하였다. 그리고 DCM에 녹인 4-(아미노메틸)벤조니트릴 염산염(4-(aminomethyl)benzonitrile hydrochloride) 1.22g (7.23mmol)과 TEA 0.268g (2.64mmol)을 상기 DSeDPA 용액에 첨가하였다. 그 다음, DCM에 녹인 DCC 0.81 g (3.93 mmol)를 0 °C에서 30분간 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물은 실온으로 가져와 N₂에서 12시간 동안 교반 하였다. 하얀 침전물을 걸러내고 여과액을 농축한 후, 생성물은 증류수에 용해하여 1N HCl 수용액으로 pH ~3까지 산성화하였다. 그 다음 에틸 아세테이트로 용액을 추출하고 유기층을 증발하였다. 이것을 플래시 크로마토그래피(Acetone:DCM = 10:90)로 분리하여 백황색의 3,3'-디셀레나디일비스(N-(4-시아노벤질)프로파마이드 (3,3'-diselanediyldibis(N-(4-cyanobenzyl)propanamide, DSeDPA-4AM)을 얻었다 (수율 52%). DSeDPA-4AM의 ¹H NMR(600MHz, DMSO-d₆); δ = 8.56(s, 1H), 7.77(d, 2H), 7.43(s, 2H), 4.35(s, 1H), 3.12(t, 2H), 1.3MHz(600MHz)

[0171] 단계 2 : 디셀레나이드-테트라진 가교제(Se-Tz) 의 합성

[0172] 상기 단계1에서 얻은 DSeDPA-4AM과 0.02 당량의 니켈 트리플레이트 (nickel triflate)와 8 당량의 포름아미딘 아세테이트 염 (formamidinium acetate salt)을 둥근 플라스크에 섞었다. 그리고 나서 무수 히드라진 36 당량을 상기 플라스크에 떨어뜨려 넣고, 혼합물을 실온에서 약 20시간 동안 교반하였다. 1 M HCl 수용액을 상기 혼합물에 떨어뜨리고 30분간 교반한 후, 혼합물을 0°C로 냉각하고 증류수에 용해된 질산나트륨 10 당량을 교반 중인 용액에 첨가하였다. 그 다음 DCM으로 용액을 추출한 뒤 증발시켜 생성물을 얻었다. 생성물을 실리카겔에 흡착하고 플래시 크로마토그래피(95:5 디클로로메탄:methanol)로 정제하여 분홍색 분말을 수득하였다. Se-Tz 가교제의 화학구조는 도 1에 나타낸 바와 같다.

[0173] 상기 제조예 6의 Se-Tz의 ¹H NMR 및 FT-IR 스펙트럼을 도 3 B) 및 4에 각각 나타내었다.

[0174] Se-Tz (제조예 6)의 ¹H NMR(600 MHz, DMSO-d₆) (도 3B)); δ = 10.57(s, 1H), 8.62(t, 1H), 8.45(d, 2H), 7.56(d, 2H), 4.42(H), 2.42(H)

[0176] <제조예 7> 디셀레나이드-말레이미드 가교제(Se-Mi, bis(2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl) 3,3'-diselanediyldipropionate) 합성

[0177] 먼저 히드록시에틸 말레이미드 5g (0.035 mol), DCC 8.04 g (0.039 mol) 및 DMAP 47.61 mg (0.0039 mol)을 디클로로메탄 10 mL에 용해하고 얼음탕에서 30분 간 냉각시켰다. DSeDPA 5.17 g (0.017 mol)을 디클로로메탄 5 mL에 녹여 상기 용액에 적하하고, 혼합물을 얼음탕에서 30분 더 교반하였다. 그 후 반응물은 상온에서 24시간 동안 교반하였다. 흰색 침전물의 부산물은 걸러내고 생성물 용액을 농축했다. 생성물 용액은 증류수로 수세하고 MgSO₄ 에서 건조한 다음 회전 증발기에 농축하였다. SiO₂ 플래시 칼럼 크로마토그래피 (용출액 EtOAc:CHCl₃ = 8:2)로 순수한 생성물인 디셀레나이드-말레이미드 가교제(Se-Mi)를 분리하였다. (수율 63%)

[0179] <제조예 8> 디셀레나이드-퓨란 가교제(Se-Fu, 3,3'-diselanediyldibis(N-(cyclopenta-1,3-dien-1-yl)methyl)propanamide) 합성

[0180] 퍼퓨릴 아민 3.39g (0.035mol)과 DCC 8.04g (0.039mol)을 디클로로메탄 10 mL에 용해하여 얼음탕에서 30분 간 냉각시켰다. DSeDPA 5.17 g (0.017 mol)을 디클로로메탄 5 mL에 녹여 상기 용액에 떨어뜨려 넣은 다음, 혼합물을 얼음탕에서 30분 더 교반하였다. 그 후 반응물은 상온에서 24시간 동안 교반하였다. 흰색 침전물의 부산물은 걸러내고 생성물 용액을 농축했다. 생성물 용액은 증류수로 수세하고 MgSO₄ 에서 건조한 다음 회전 증발기에 농축하였다. SiO₂ 플래시 칼럼 크로마토그래피 (용출액 EtOAc:CHCl₃ = 8:2)로 순수한 생성물인 디셀레나이드-퓨란 가교제(Se-Fu)를 분리하였다. (수율 67%)

[0182] <제조예 9> 디셀레나이드-아자이드 가교제(Se-N₃) 합성 bis(2-azidoethyl) 3,3'-diselanediyldipropionate/Diselenide-Azide (Se-N₃)

[0183] 3-아지도-1-프로판올 3.53g (0.035mol), DCC 8.04g (0.039mol) 및 DMAP 47.61mg (0.0039mol)을 디클로로메탄 10 mL에 용해하여 얼음탕에서 30분 간 냉각시켰다. DSeDPA 5.17 g (0.017 mol)을 디클로로메탄 5 mL에 녹여 상기 용액에 떨어뜨려 넣은 다음, 혼합물을 얼음탕에서 30분 더 교반하였다. 그 후 반응물은 상온에서 24시간 동안 교반하였다. 흰색 침전물의 부산물은 걸러내고 생성물 용액을 농축했다. 생성물 용액은 증류수로 수세하고 $MgSO_4$ 에서 건조한 다음 회전 증발기에 농축하였다. SiO_2 플래시 칼럼 크로마토그래피 (용출액 EtOAc:CHCl₃ = 8:2)로 순수한 생성물인 디셀레나이드-아자이드 가교제(Se-N₃)를 분리하였다. (수율 60%)

[0185] <제조예 10> 디셀레나이드-알카인 가교제(Se-Aky) 합성

[0186] 프로파길 아민 1.93g (0.035mol)과 DCC 8.04g (0.039mol)을 디클로로메탄 10 mL에 용해하여 얼음탕에서 30분 간 냉각시켰다. DSeDPA 5.17 g (0.017 mol)을 디클로로메탄 5 mL에 녹여 상기 용액에 떨어뜨려 넣은 다음, 혼합물을 얼음탕에서 30분 더 교반하였다. 그 후 반응물은 상온에서 24시간 동안 교반하였다. 흰색 침전물의 부산물은 걸러내고 생성물 용액을 농축했다. 생성물 용액은 증류수로 수세하고 $MgSO_4$ 에서 건조한 다음 회전 증발기에 농축하였다. SiO_2 플래시 칼럼 크로마토그래피 (용출액 EtOAc:CHCl₃ = 8:2)로 순수한 생성물인 디셀레나이드-알카인 가교제(Se-Aky)를 분리하였다. (수율 65%)

[0188] <실시예 1> 외부자극 감응형 하이드로젤의 제조

[0189] 도 2에 Alg-Nb와 Se-Tz 가교제를 이용하여 역-전자-요구 디엘스 알더 클릭 반응(Inverse-electron demand Diels Alder click reaction; IEDDA click reaction)에 의해 가교 결합된 알긴산 하이드로 겔(alginate hydrogel)의 합성 경로를 나타내었다.

[0190] 구체적으로 상기 제조예 1의 Alg-Nb와 상기 제조예 6의 Se-Tz을 생리적 온도에서 혼합하면 빠른 겔화 속도로 하이드로겔을 형성한다. 하이드로겔의 물리화학적 특성을 비교 평가하기 위하여 서로 다른 조성으로 4개의 하이드로겔 샘플을 제조하였다. 즉 pH 7.4 인산염 버퍼(PBS, 0.01M)에 2 w/v%로 용해한 400 마이크로 리터의 Alg-Nb과 DMSO : PBS (1 : 10 v/v)에 용해한 Se-Tz를 Nb/Tz = 10/4, 10/6, 10/8, 10/10 몰비에 해당하도록 혼합하여 하이드로겔을 각각 생성하였다. 4가지 하이드로겔의 구성과 약칭을 표 1에 나타내었다.

표 1

Hydrogel	Feed ratio Nb/Tz ^a	Gelation time (min) ^b	Hydrogel Content (%) ^c
HGCR1(실시예1-1)	10/10	2.51 ± 0.36	96
HGCR2(실시예1-2)	10/8	3.59 ± 0.15	94
HGCR3(실시예1-3)	10/6	8.93 ± 0.25	94
HGCR4(실시예1-4)	10/4	15.72 ± 0.51	92

[0193] ^a 노르보넨과 테트라진 작용기의 이온적 당량비

[0194] ^b 37℃ 에서 측정된 겔화 시간

[0195] ^c 중량법으로 측정

[0197] <실험예 1> 하이드로겔 함량 (hydrogel content)

[0198] 하이드로겔을 동결건조한 후, 건조된 하이드로겔을 PBS로 씻어 미반응 반응물을 제거한다. 그리고 나서, 하이드로겔을 말려서 무게를 잰다. 하이드로겔 함량은 (1) 식으로 계산한다.

[0199] 하이드로겔 함량(%) = $W_1/W_0 \times 100$ (1)

- [0200] 여기서 W_0 은 건조 하이드로겔의 1차 중량이고 W_1 은 팽윤과 세척 후 하이드로겔의 건조 중량이다.
- [0202] <실험예 2> 하이드로겔의 팽윤 비율
- [0203] 하이드로겔의 팽윤 성질은 간단한 중력법으로 측정하였다. 건조된 하이드로겔 원반을 생리학 적 온도에서 pH 7.4의 PBS(0.01 M)에 담군다. 팽윤된 하이드로겔은 주어진 시간에 무게를 재고, 하이드로겔 무게의 증가가 관찰되지 않을 때까지 계속 측정한다. 팽윤 비율(SR)은 (2) 식으로 계산하였다.
- [0204]
$$SR(100\%) = (W_s - W_d)/W_d \quad (2)$$
- [0205] 여기서 W_s 는 팽윤된 하이드로겔의 무게이고 W_d 는 최종 건조된 하이드로겔의 무게다.
- [0206] 실시예 1-1(HGCR1) 하이드로겔의 형성 과정에서 반응 시간에 따른 유동학적 전단탄성계수(shear modulus) 측정 결과, 교차점($G' > G''$)이 163.37초경에 나타났으며, 이것은 Alg-Nb과 Se-Tz의 전구체 용액을 서로 혼합한 후 단지 163.37초의 짧은 시간에 하이드로겔로 전환된다는 것을 보여준다(도 5A 참조). 주파수 스위프 시험(frequency sweep test, 0.1-10 rad/s)에서 팽윤된 HGCR1(실시예 1-1), HGCR2(실시예 1-2), HGCR3(실시예 1-3), HGCR4(실시예 1-4) 하이드로겔의 저장계수(storage modulus)는 각각 10426.02 ± 824 , 8832.67 ± 563 , 7534.75 ± 390 , 2084.79 ± 124 Pa로 확인되었으며, 이것은 Alg-Nb에 대한 Se-Tz의 혼합비율이 높을수록 저장계수가 증가하는 것을 의미한다(도 5B 참조). 모든 하이드로겔의 위상각($\tan \delta$) 값은 0.1 ~ 100 rad/s 주파수에서 1 미만이었으며, 이것은 전구체 사이의 반응에 의해 겔과 같은 특성을 생성했음을 나타낸다(도 5C 참조). 하이드로겔의 팽윤 비율은 5일 동안 PBS 용액에 담근 후 하이드로겔의 무게 증가를 측정하여 결정했다. 가교제의 양이 감소하면 알긴산염 하이드로겔의 팽윤 비율이 크게 높아진 것으로 나타났다(도 5D 참조). 모든 하이드로겔에서 팽윤 비율은 초기 2시간 동안 높게 나타났고, 그 후 24시간 동안 서서히 평형에 도달했다.
- [0208] <실험예 3> 하이드로겔의 형태학적 미세구조 관찰
- [0209] 근적외선(NIR) 조사 전후의 알긴산 하이드로겔의 내부 형태학적 미세구조를 조사하기 위해 SEM을 이용하여 하이드로겔의 단면을 관찰하였다. 팽윤상태가 평형 조건에 도달한 후, 모든 물이 제거될 때까지 하이드로겔을 진공 상태에서 동결 건조하고 동결건조된 하이드로겔을 수직으로 절단한 뒤 시편을 금으로 코팅하여 SEM 기기로 관찰하였다.
- [0210] 실시예 1의 HGCR 1(실시예 1-1), HGCR 2(실시예 1-2), HGCR 3(실시예 1-3), HGCR 4(실시예 1-4) 하이드로겔의 SEM 이미지를 도 6에 도시하였다.
- [0211] 도 6에 나타난 바와 같이 모든 종류의 하이드로겔의 형태학은 조밀하고 매끄러운 부분이 혼합된 것으로 나타났으며, 기공이 큰 시트 구조를 형성하였다. 그리고 네트워크의 미세 구조는 하이드로겔 전구체의 구성비에 의존했다. 보다 구체적으로, 적은 양의 Se-Tz 가교제 농도로 제조된 HGCR4(실시예 1-4)의 SEM 이미지는 HGCR1(실시예 1-1)보다 더 높은 다공성 구조를 보여주었다.
- [0213] <실시예 2> 하이드로겔에 ICG/DOX 적재
- [0214] 하이드로겔에 인도시안 그린(Indocyanine green, ICG)과 독소루비신(doxorubicin, DOX)을 적재하기 위해, PBS에 용해한 DOX 1mg/mL와 ICG 1mg/mL을 Alg-Nb 용액에 첨가하였다. 그 후, Se-Tz를 상기 ICG/DOX/Alg-Nb 용액에 혼합하여 HGCR1/ICG/DOX 하이드로겔을 생성하였다. 비교용으로 HGCR1/ICG(비교예 1)와 HGCR1/DOX(비교예 2) 하이드로겔들을 같은 방법으로 제조하였다.
- [0216] <실험예 4> NIR 조사에 의한 하이드로겔의 분해반응 조사
- [0217] 인도시안 그린(Indocyanine green, ICG)이 적재된 하이드로겔 디스크(9.4 mm 직경, 10 mm 두께)를 pH 7.4의 PBS 10 mL에 담근 후, 근적외선(near infrared, NIR) (808 nm , 2 W/cm^2)로 15분동안 조사했다. 그 다음 NIR을 제거하고 37°C 에서 24시간 동안 100 rpm 수평 셰이커를 사용하여 흔들어 주었다. 새로운 PBS로 용액을 바꾸어 주면서 상기 과정을 매일 반복하였다. 비교 실험으로 상기 하이드로겔을 생리적 온도에서 0.5wt% H_2O_2 수용액에

도 담구었으며, H₂O₂ 수용액도 매일 새로운 용액으로 바꾸어 주었다. 그리고, 주어진 시간 간격에 따라 하이드로겔의 무게 감소를 측정했다.

[0218] 체중 감소(%) = (Wd - Wr)/Wd x 100 (3)

[0219] 여기서 Wd는 처음에 건조된 하이드로겔의 중량이다. Wr은 분해되지 않고 남은 하이드로겔의 건조 중량이다. 비교용으로 NIR과 H₂O₂를 사용하지 않은 하이드로겔도 같은 조건에서 측정하였다.

[0220] 디셀레나이드 결합은 활성 산소류 (reactive oxygen species, ROS) 또는 H₂O₂와의 반응에 의해 분해될 수 있는 것으로 알려져 있다. HGCR1/ICG 하이드로겔은 NIR 조사 후 16일 이내에 완전히 용해되었다(도 7A). 게다가, 더 낮은 가교 밀도의 하이드로겔은 더 빠른 분해 현상을 나타내었다. 비교 실험으로 0.5 wt% H₂O₂ 수용액의 경우, HGCR1 하이드로겔은 4일 후 투명한 용액으로 바뀌었다 (도 7B). 상기 결과들은 하이드로겔 구조에서 디셀레나이드 결합이 분해되면서 가교된 하이드로겔이 선형 알긴산염 사슬로 분해되는 것을 나타낸다. 반면에 아무런 처리도 하지 않은 순수한 하이드로겔의 경우 10일이 지나도록 분해되지 않았다 (도 7C).

[0222] <실험예 5> NIR 조사에 의한 약물 방출 (시험관내 실험)

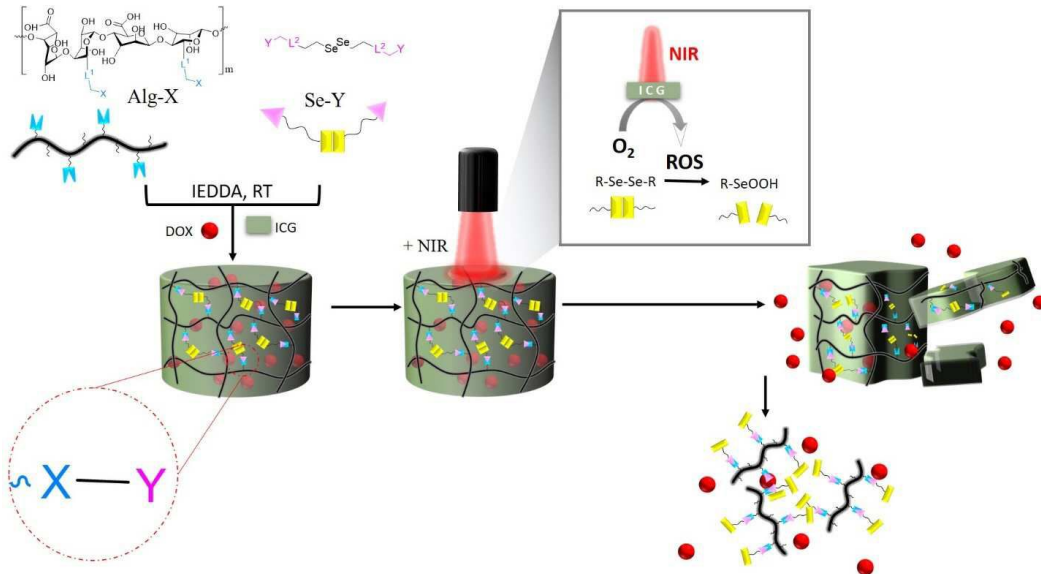
[0223] 하이드로겔의 약물 방출 실험은 0.5 wt% H₂O₂ 수용액 또는 PBS에서 수행하였다. NIR 조사에 의한 약물 방출 실험의 경우, HGCR1/ICG/DOX(실시예 2) 하이드로겔을 37℃에서 pH 7.4 PBS 15 mL에 담군 다음 808 nm NIR을 2 W/cm² 또는 1 W/cm²의 세기로 15분 동안 조사하였다. 그 다음, NIR 없이 37℃에서 24시간 동안 유지하였다. 산화 반응에 의한 약물 방출 실험의 경우, HGCR1/DOX(비교예 2) 하이드로겔을 0.5 wt% H₂O₂ 용액 15 mL에 넣고 흔들어 주었다. 주어진 시간 간격에 따라 3mL의 샘플 용액을 취하여 485nm와 780nm의 파장에서 UV-vis 분석을 진행하였다. DOX의 양은 표준 검량선을 사용하여 측정하였다. 샘플링할 때마다 총 부피를 일정하게 유지하기 위해 신선한 용액 3 mL를 보충하였다. DOX 배출 비율은 누적치로 계산하였다.

[0224] NIR 응답성 특성 때문에, 디셀레나이드 가교 연결로 구성된 알긴산염 하이드로겔은 약물이나 생체활성분자의 캡슐화 및 지속적인 방출에 사용될 수 있다. DOX를 하이드로겔의 방출 양상을 조사하기 위한 모델 약물로 선택하고, 가장 높은 가교 밀도의 HGCR1 하이드로겔을 샘플로 선택하여 방출 성질을 관찰하였다. DOX와 ICG는 하이드로겔 형성 중에 HGCR1 구조내에 적재하였다. 도 8에서 보듯이 HGCR1/DOX/ICG 하이드로겔은 외부 자극이 없으면 장기적으로 낮은 DOX 방출 속도를 나타내었다. 반면에, NIR 레이저 조사 또는 산화 환경에는 DOX의 누적 방출량이 상당히 증가함을 알 수 있다. 예상대로 높은 전력 밀도의 NIR을 사용하면 높은 방출 속도를 달성할 수 있었다. 즉, 5일 간의 간헐적인 NIR 방사선 조사 후 HGCR1/DOX/ICG의 약물의 누적 방출량은 2 W/cm²에서 74%, 1 W/cm²에서 63%이었다. 10일 후에는 거의 90%에 달했는데, 이것은 NIR 노출 없이 동일한 샘플에서 같은 기간에 10% 만 방출한 것과 뚜렷한 대조를 보였다. NIR 광선 조사에 의해 ICG가 ROS를 생성하게 하고, 이 ROS는 디셀레나이드 결합 및 젤 네트워크를 분해하여 하이드로겔 구조로부터 약물 방출을 가속화하는 것으로 판단된다.

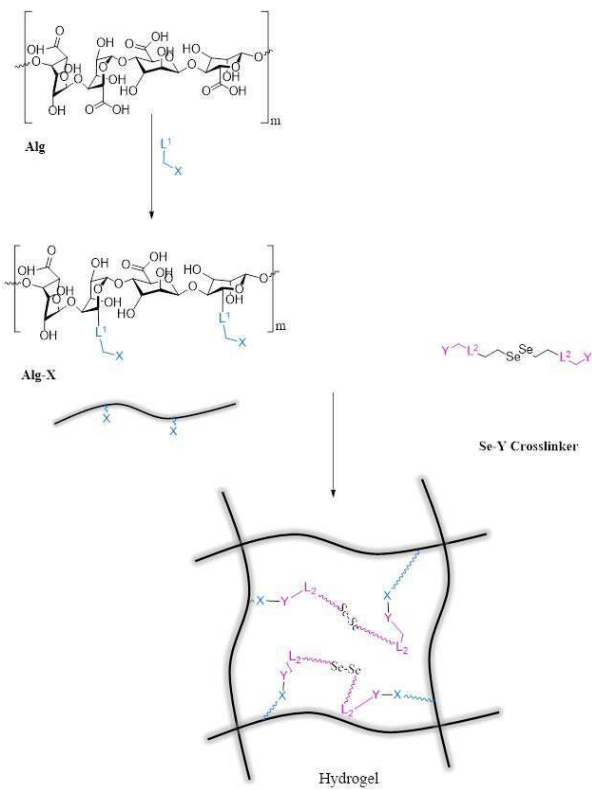
[0226] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

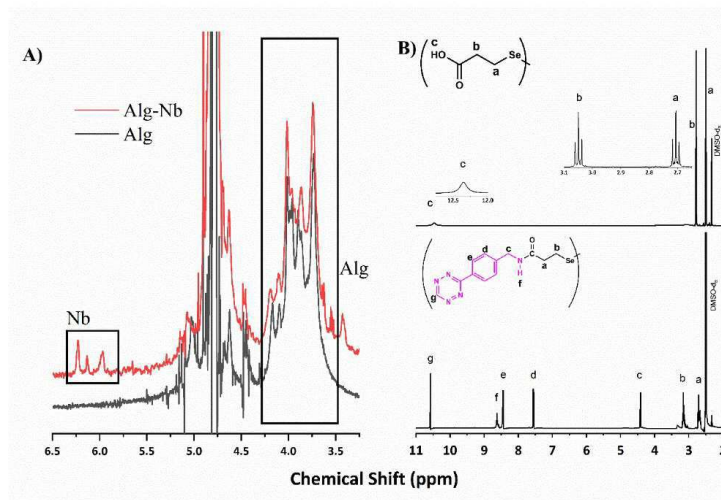
도면1



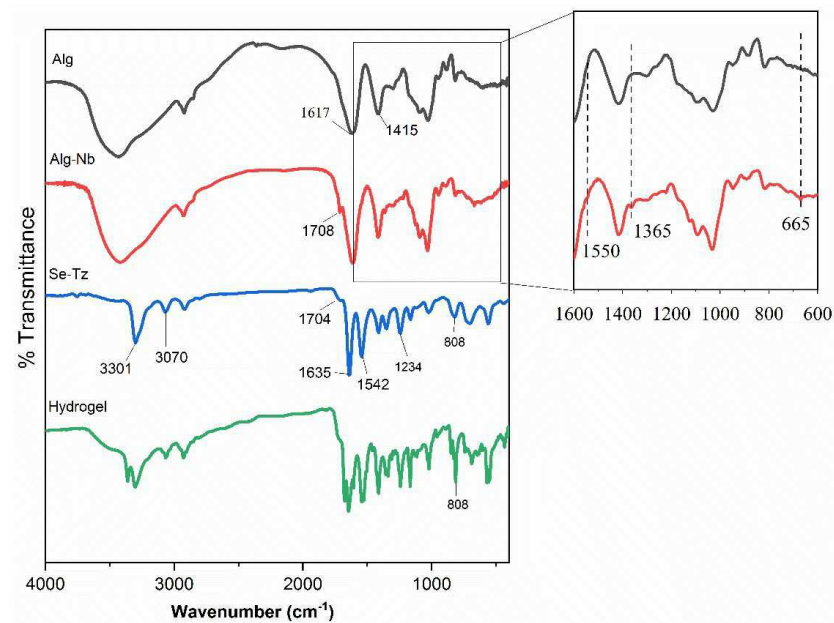
도면2



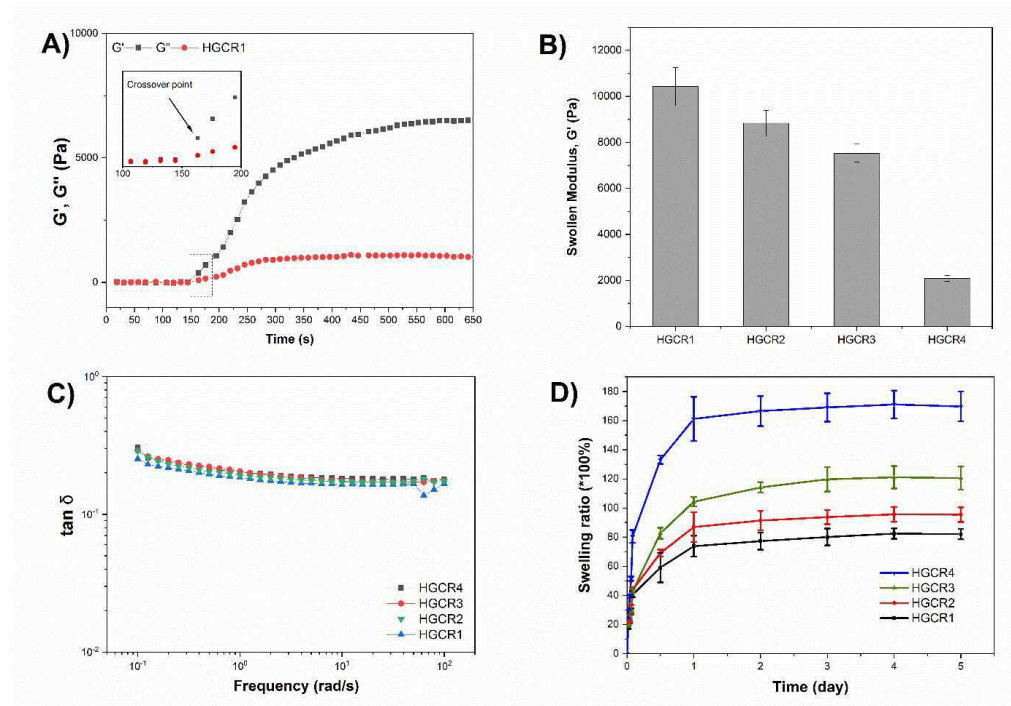
도면3



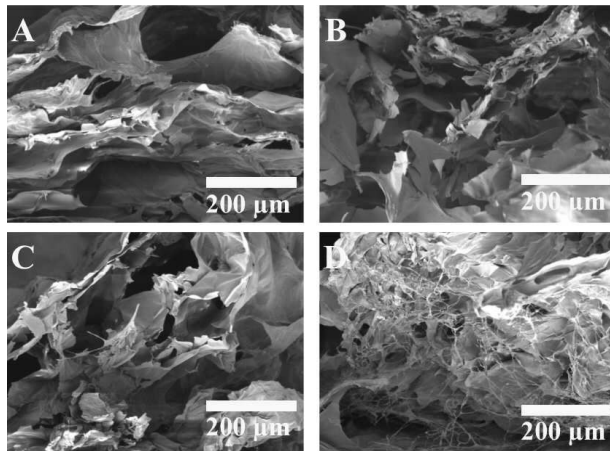
도면4



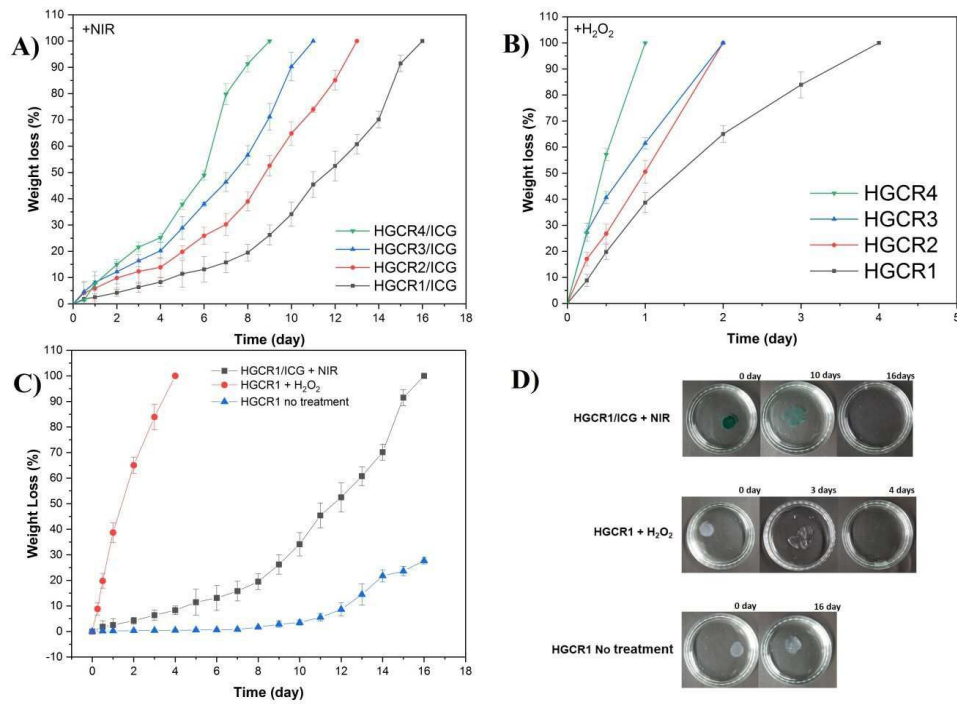
도면5



도면6



도면7



도면8

